ANEX I: CE CERTIFICATE

AUXILAB S.L.

CE DECLARATION OF CONFORMITY
HORIZONTAL ELECTROFORESIS CELL of Auxilab,S.L for the Directive of machines (89/392/CEE modified) and the regulations adopted for its transposition

NAME OF THE MANUFACTURER / IMPORTER:
AUXILAB, S.L.

ADDRESS: **Polígono Morea Norte, 8**
31191 Beriáin (Navarra)

WE STATE THAT:

HORIZONTAL ELECTROFORESIS CELL
53000001

Are designed and manufactured according to:

- Directive 89/392/CEE, including the modifications and the national regulations that transpose them.
- Directive 73/23/CEE, modified over the electric security.
- Directive 89/336/CEE, modified over the electromagnetic compatibility.

- And that the following harmonized rules have applied (or part of them):
UNE 292-1/-2/-2/A1,UNE-EN 1050, UNE-EN 614-1,UNE-EN 1037, UNE-EN 1088, UNE-EN 547, UNE-EN 953, UNE-EN 294, UNE-EN 418, UNE-EN 894-1, UNE-EN 894-2, UNE-EN 954-1, UNE-EN 60204-1, UNE 61010-1/A2, UNE-EN61010-2-051.

BERIAIN 04th JUNE 2007

Signed by: ALFONSO AINCIBURU SANZ
DIRECTOR/MANAGER

Polígono Morea Norte, 8 31191 Beriain (Navarra) - Spain. Tel. 948 310 513 Fax 948 312 071
Internet: www.auxilab.es · Email: correo@auxilab.es

CUBETA DE ELECTROFORESIS HORIZONTAL
HORIZONTAL ELECTROFORESIS CELL

Este manual es parte inseparable del aparato por lo que debe estar disponible a todos los usuarios del equipo. Le recomendamos leer atentamente el presente manual y seguir rigurosamente los procedimientos de uso para obtener las máximas prestaciones y una mayor duración del mismo.

This manual should be available for all users of these equipments. To get the best results and a higher duration of this equipment it is advisable to read carefully this manual and follow the processes of use.

Gracias por haber adquirido este equipo. Deseamos sinceramente que disfrute de la cubeta de electroforesis horizontal Nahita. Le recomendamos que cuide el equipo conforme a lo expuesto en este manual.

Nahita desarrolla sus productos según las directrices del marcado CE y haciendo hincapié en la ergonomía y seguridad del usuario.

La calidad de los materiales empleados en la fabricación y el correcto proceder le permitirán disfrutar del equipo por muchos años.

El uso incorrecto o indebido del equipo puede dar lugar a accidentes, descargas eléctricas, cortocircuitos, fuegos, lesiones, etc. Lea el punto de Mantenimiento, donde se recogen aspectos de seguridad.

LEA DETALLADAMENTE ESTE MANUAL DE INSTRUCCIONES ANTES DE OPERAR CON ESTE EQUIPO CON EL FIN DE OBTENER LAS MÁXIMAS PRESTACIONES Y UNA MAYOR DURACIÓN DEL MISMO.

Tenga especialmente presente lo siguiente:

◆ Este manual es parte inseparable de la cubeta de electroforesis horizontal Nahita, por lo que debe estar disponible para todos los usuarios del equipo.

◆ Debe manipularse siempre con cuidado evitando los movimientos bruscos, golpes, caídas de objetos pesados o punzantes.

◆ Cualquier duda puede ser aclarada por su distribuidor (instalación, modo de uso, funcionamiento). Usted puede también mandarnos sus dudas o sugerencias a la siguiente dirección de correo del Servicio Técnico Nahita (asistencia@auxilab.es) o bien llamando al Tel: 807117040 (0,30Euros/min).

◆ Este equipo está amparado por la Ley de garantías y bienes de consumo (10/2003).

◆ No se consideran en garantía las revisiones del equipo.

◆ Los accesorios, así como su pérdida, no están cubiertos por dicha garantía. Tampoco estarán cubiertos por el periodo de garantía las piezas en su desgaste por uso natural.

◆ Asegúrese de guardar la factura de compra para tener derecho de reclamación o prestación de la garantía. En caso de enviar el equipo al Servicio Técnico adjunte factura o copia de la misma como documento de garantía.

◆ Rellene y envíe la garantía antes de los 15 días después de la compra.

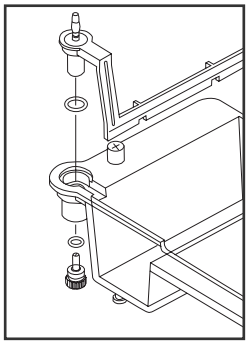
◆ El fabricante se reserva los derechos a posibles modificaciones y mejoras sobre este manual y equipo.

¡ATENCIÓN! NO SE ADMITIRÁ NINGÚN APARATO PARA REPARAR QUE NO ESTÉ DEBIDAMENTE LIMPIO Y DESINFECTADO.

ÍNDICE DE IDIOMAS

Castellano 2-15
Inglés 16-28

- Remove the screw and the rubber ring located under the banana connector of the tank.
- Remove the broken or damaged electrode by pulling upward from the connector.
- Insert the new electrode; do not forget the rubber ring.
- Put the screw and the rubber ring again and tighten them to form a leak-free seal.



Cleaning

◆ Wash all components gently with water and non abrasive detergents, and rinse well in deionized water. Note: be careful not to damage the electrode wire when cleaning the electrophoresis tank.

◆ Wipe dry with a soft cloth or allow to air dry.

◆ Never use scourers or substances that can grate as they damage the electrophoresis cell and produce an early ageing of the equipment.

ATTENTION!! IF EQUIPMENTS ARE NOT PROPERLY CLEAN AND DISINFECTED THEY WOULD NOT BE ALLOWED TO REPAIR BY OUR TECHNICAL SERVICE.

INSTRUCTIONS ON ENVIRONMENT PROTECTION

At the end of its life cycle, please, do not dispose of this equipment by throwing it in the usual garbage; hand it over a collection point for the recycling of electrical and electronic appliances. It does not contain dangerous or toxic products for humans but a non adequate disposal would damage the environment.

The materials are recyclable as mentioned in its marking. By recycling material or by other forms of re-utilization of old appliances, you are making an important contribution to protect our environment.

Please inquire at the community administration for the authorized disposal location.

TROUBLE	*COMENTS*
"Flaming bands" (excessive fluorescence appearing as a trail above the band)	- Reduce the amount of the sample - Reduce the amount of protein and/or glycerol of the sample
Bands are not straight lines or parallel to the top edge of the gel	- Verify that the wells are free of particles and bubbles before and after loading samples - Verify that the agarose is completely dissolved before casting the gel - Remove any particulate matter from the agarose before casting the gel - Be sure that bubbles are not trapped against the comb during gel casting
All bands appear as doublets (each band is represented twice within the same lane)	- Concentrate the sample and use a thin gel with a thin comb - Avoid movements during gel photography - Reduce voltage. Band doublets may result due to denaturalization from excess heat from electrophoresing gel at high voltage

7.MAINTENANCE AND CLEANING

To get the best results and a higher duration of the horizontal electrophoresis cell it is essential to follow the processes of use.

Note: All the processes of use mentioned below will not have any value unless you keep a continued and careful maintenance.

◆ Please follow the processes of use of this manual.

◆ This manual should be available for all users of this equipment.

◆ Always use original components and supplies. Other devices can be similar but they can damage the equipment.

◆ NEVER autoclave or dry-heat sterilize the apparatus or components.

◆ Do not expose the apparatus or components to phenol, benzene, acetone, halogenated hydrocarbon solvents or undiluted laboratory alcohols.

◆ Avoid prolonged exposure of the apparatus or components to the UV light.

◆ In case of breakage or damage of the electrodes proceed as follows for their replacement:

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. APLICACIONES DEL INSTRUMENTO 3
2. DESCRIPCIÓN Y COMPONENTES 3
3. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS 5
4. MODO DE USO 5
5. SOLUCIONES TAMPÓN DE ELECTROFORESIS Y OTRAS 9
6. RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS 11
7. MANTENIMIENTO Y LIMPIEZA 13
ANEXO I: CERTIFICADO CE 15

1. APLICACIONES DEL INSTRUMENTO

La cubeta de electroforesis horizontal de Nahita está diseñada para la separación, identificación, y preparación de moléculas de DNA y RNA en geles de agarosa. El equipo viene completo con todos los accesorios necesarios para la preparación y electroforesis de geles de 100x70 mm.

2. DESCRIPCIÓN Y COMPONENTES

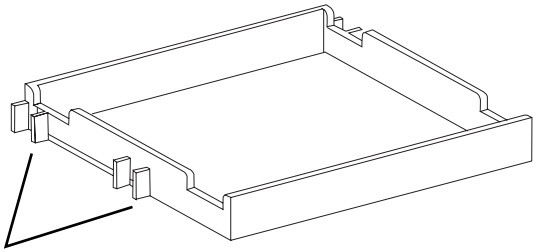
Componentes

La cubeta de electroforesis horizontal de Nahita se suministra junto con todos los componentes necesarios para la preparación y electroforesis de geles de agarosa de 100x70 mm:

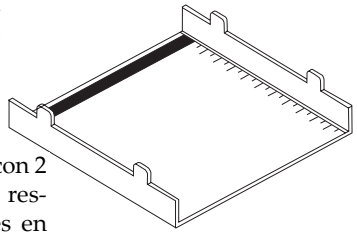
◆ *Tanque de electroforesis:* fabricado en material de alta calidad resistente a la rotura, la acción de agentes químicos y presión y temperaturas elevadas. Es un dispositivo duradero, transparente, bien sellado y sin contaminantes químicos. Presenta 4 patas antideslizantes y 2 electrodos reemplazables de platino puro resistentes a la corrosión y a elevadas temperaturas.

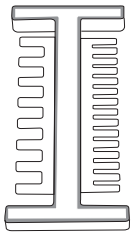
◆ *Tapa:* al igual que el tanque, está fabricada con un material de elevada calidad y resistencia. Presenta ranuras para disipar el calor y dos cables fijos de alimentación con conector tipo banana para conectar a la fuente de alimentación.

- Molde para la preparación de geles: permite la preparación de geles de 100x70 mm. Presenta ranuras laterales para la colocación y sujeción de hasta 2 peines paralelos en caso de tener que analizar un elevado número de muestras al mismo tiempo



- *Bandejas para geles:* con regla integrada y con banda oscura para favorecer la visualización de los pocillos y así facilitar la carga de las muestras





- *Peines:* el equipo se suministra con 2 peines de 1.0 y 1.5 mm de grosor respectivamente ambos con 8 dientes en un lado y 15 en el otro

1. Tanque de electroforesis
2. Electrodos reemplazables
3. Patas antideslizantes
4. Dispositivo para facilitar la extracción de la tapa
5. Bandeja para geles
6. Tapa
7. Ranuras para dispersión del calor
8. Cables fijos

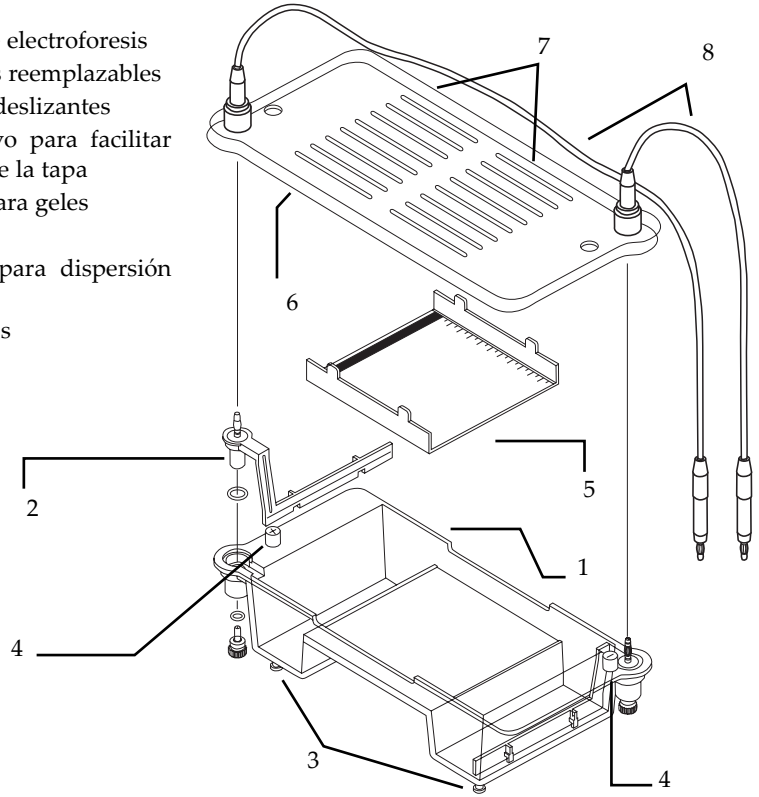


CHART 7 . Concentrated stock of ethidium bromide, 20000x

Component	*Quantity*	*Concentration*
Ethidium bromide	100 mg	10 mg/mL
Deionized water	0.37 g	----

6. TROUBLESHOOTING

TROUBLE	*COMENTS*
Bubbles do not appear on the electrodes when DC voltage is connected	- Verify that the DC power supply is operating properly - Verify that the lid is properly placed on the apparatus - Verify that power leads are in perfect conditions - Verify that electrodes are in perfect conditions
Bromophenol blue dye turns yellow (pH change) during electrophoresis. Results are uninterpretable.	- Check the pH of the electrophoresis buffer. Be sure to use Tris base not Tris HCl. - Mix the buffer periodically during electrophoresis.
Samples leak underneath the gel upon loading	The bottom of the wells were torn when the comb was removed. To minimize adhesion of the agarose to the comb, remove the comb as soon as the agarose is solidified.
Gel melts or become soft near sample wells	- This is due to the combination of pH drift and high temperatures. Reduce the electrophoretic voltage.
Pronounce "smiling" along one edge of the gel is observed (corresponding bands in different lanes migrate slower toward one edge of the gel)	- Gel was cast or electrophoresed out of level. Use the "bull's eye" level to verify that the apparatus is levelled prior to gel casting and electrophoresis.
S-Shaped lanes (anomalous migration front results in lanes that are not running at a uniform speed)	- Mix the buffer periodically during electrophoresis - Use a low conductivity / high buffering capacity buffer (eg. from TAE 1x or TBE 1x to TBE 0.5x) - Reduce the salt concentration of the sample

CHART 5. TAE (Tris acetate/EDTA) buffer, 10x

Component	*Quantity*	*Concentration*
Tris base	48.4 g	400 mM
$Na_2EDTA{\cdot}2H_2O$	7.4 g	20 mM
Sodium acetate, anhydrous	16.4 g	200 mM
Glacial acetic acid	17.0 mL	296 mM
Deionized water	Up to 1 L	----

Note: This is a 10x concentrated solution. Dilute with deionized water prior to use. Final pH should be 7.8 at 25 ºC.

5.2 Loading buffer

Loading buffer must be added to samples before loading the gel. This solution must have enough glycerol to be denser than the electrophoresis buffer.

It is recommended to prepare a concentrated stock and immediately prior to loading add this stock to samples so that the final concentration at the mixture is 1x. Stock solution must be kept at 4 ºC.

CHART 6. Loading buffer, 10x

Component	*Quantity*	*Concentration*
Glycerol	5 mL	50% (v/v)
$Na_2EDTA{\cdot}2H_2O$	0.37 g	100 mM
Sodium dodecyl sulphate (SDS)	0.1 g	1% (w/v)
Bromophenol blue	0.01 g	0.1% (w/v)
Deionized water	Up to 10 mL	----

5.3 Ethidium bromide

For visualization of double-stranded DNA after electrophoresis, it is necessary to stain the gel with a 0.5 g/mL solution of ethidium bromide in deionized water. The gel should be transferred to the solution and left to stain for a time depending on gel thickness (10-15 min for 3 mm-thick gels and up to 1 h for 10 mm-thick gels). To reduce fluorescent background, the gel can be destained in deionized water for 10-15 min (thin gels) or 30 min (thick gels).

Ethidium bromide can also be added directly to the agarose before casting the gel; so that electrophoresis is preformed in the presence of ethidium bromide. The concentration of ethidium bromide in the gel must also be 0.5 g/mL.

It is recommended to prepare a concentrate stock of ethidium bromide that must be stored in the dark.

NOTA: el bromuro de etidio es un agente mutagénico muy potente. Lleve guantes en todo momento cuando manipule soluciones, geles o equipos que hayan estado en contacto con esta sustancia.

3. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

Referencia	*53000001*
Dimensiones gel (mm)	100x70
Nº muestras	8, 15
Grosor peines	1 y 1.5 mm
Volumen sol. tampón (aprox.)	260 mL
Condiciones trabajo	0-40 ºC y < 80% HR
Tiempo de trabajo continuo	>24 h
Max. voltaje entrada	100 V
Max. corriente eléctrica	50 mA
Dimensiones cubeta (LxAxH)	268x116x76 mm

4. MODO DE USO

4.1 Inspección preliminar

Desembale la cubeta de electroforesis horizontal, retire todas las protecciones y asegúrese de que no presenta ningún daño debido al transporte. De ser así, comuníquelo inmediatamente a su transportista o suministrador para que pueda hacer las debidas reclamaciones en el plazo establecido.

Guarde el embalaje, ya que siempre se deben realizar las devoluciones en su embalaje original con todos los accesorios suministrados.

Compruebe los accesorios que usted debe recibir junto al equipo:

- 1 Tanque con electrodos
- 1 Tapa con cables fijos
- 1 Molde para preparación de geles
- 2 Bandejas de 74x100 mm para geles
- 2 Peines de 1.0 y 1.5 mm grosor respectivamente
- Garantía
- Manual de instrucciones

Solo aceptamos devoluciones de equipos en los 15 días posteriores al envío y siempre que vengan completos en su embalaje original.

4.2 Modo de uso

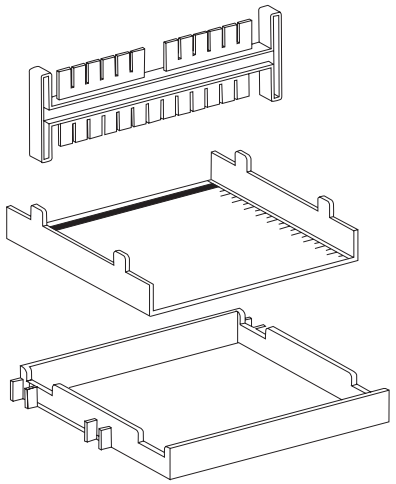
Nota: el equipo está diseñado exclusivamente para su uso en el laboratorio; la temperatura ambiente debe ser de 0-40 ºC y la humedad relativa no debe exceder del 80%. Para su utilización, coloque la cubeta de electroforesis en una superficie, plana, lisa y libre de vibraciones.

◆ Montaje para preparación del gel

- Coloque la bandeja para geles dentro del molde. Asegúrese de que la banda negra para facilitar la visualización de los pocillos está a la altura de la ranura para la sujeción del peine.

- Seleccione el peine con el grosor y número apropiado de pocillos según el experimento que se vaya a realizar. Generalmente se utiliza el peine de 1 mm grosor pero en aquellos casos en los que se trabaje con geles frágiles, es preferible utilizar el peine de 1.5 mm grosor.

- Inserte el peine en el molde para geles, de modo que cada uno de los extremos del peine encaje dentro de las ranuras laterales del molde.



◆ Preparación del gel

- Seleccione la concentración de agarosa que debe tener el gel de acuerdo al tamaño de los fragmentos de DNA que desea analizar (Tabla 1).

Tabla 1. Concentración de agarosa recomendada para diferentes tamaños de fragmentos de DNA.

Concentración agarosa (p/v)	*Tamaño fragmentos DNA (Kb)*
0.5 %	1.0 a 30
0.7 %	0.8 a 12
1.0 %	0.5 a 10
1.2 %	0.4 a 3
1.5 %	0.2 a 3
2.0 %	0.01 a 1

- Seleccione el volumen de agarosa líquida que necesita según el grosor del gel que desea preparar (Tabla 2).

Tabla 2. Volumen de agarosa requerido y volumen de solución tampón a añadir en el tanque de electroforesis en función del grosor del gel.

Grosor gel	*Volumen agarosa*	*Volumen solución tampón (tanque)*
10 mm	70 mL	250 mL
5 mm	35 mL	210 mL
3 mm	21 mL	200 mL

Security

◆ The horizontal electrophoresis cell must be used by previously qualified staff that knows how the equipment works thanks to the user manual.

◆ Put the electrophoresis cell on top of a horizontal, plane and stable table.

◆ Do not put the electrophoresis cell near any warm supply (burners, blowlamps…). Avoid vibrations.

◆ Horizontal electrophoresis cell is intended to use with a DC power supply. An inadequate manipulation may cause burns, hurts and damages to the electrical installation.

◆ Never connect the electrophoresis cell to the power supply before starting the experiment. The electrical current supplied by the power supply is transmitted to the cell through the leads and the lid assembly.

◆ Never use the electrophoresis cell without the lid.

◆ Always turn off the power supply before opening and removing the lid.

◆ Certain reagents indicated for use in this manual are of a hazardous nature (eg. ethidium bromide, acetic acid, boric acid). User should strictly observe the safety regulations indicated for such products.

◆ The equipments used in these procedures (power supplies, UV lamps, etc.) should be used following the manufacturer safety recommendations.

5. ELECTROPHORESIS BUFFERS AND OTHER SOLUTIONS

5.1 Electrophoresis buffers

For electrophoresis of gels of the same concentration and at the same voltage TAE buffer provides better resolution of fragments > 4 Kb in length while TBE buffer provides better resolution for 0.1-3 Kb fragments. TBE buffer has a higher buffering capacity and a lower conductivity and therefore is better suited for electrophoresis at high voltage (>150 V). Moreover, this solution generates less heat at equivalent voltage and does not permit a significant pH drift.

Due to its low buffering capacity, TAE buffer requires recirculation systems or mixing periodically for full-length electrophoresis, particularly at higher voltages. TAE buffer provides better results for supercoiled DNA.

It is recommended to prepare a concentrated stock from which a 1x solution will be prepared when necessary.

Chart 4. TBE (Tris borate/EDTA) buffer, 10x

Component	*Quantity*	*Concentration*
Tris base	121.1 g	1 M
Boris acid, anhydrous	61.8 g	1 M
$Na_2EDTA{\cdot}2H_2O$	7.4 g	20 mM
Deionized water	Up to 1 L	----

Note: This is a 10x concentrated solution. Dilute with deionized water prior to use. Final pH should be 8.3 at 25 ºC.

Note: volumes given are approximate. Low-percentage gels and low-melting-point agarose gels may have lower sample volumes.

- Add loading buffer to samples before loading the gel. Use an automatic pipette and disposable tips to prepare samples by combining appropriate quantities of loading buffer and sample. Mixtures can be prepared in microcentrifuge tubes or on a piece of Parafilm.

- Load the samples into each individual well using the pipetting device. Avoid bubble formation. ***Note: caution must be taken at this point to avoid damaging the bottom and walls of the wells with the pipette tip.***

◆ Electrophoresis

- Cover the electrophoresis tank with the lid. ***Note: The lid is especially designed to fit in a unique position thus assuring that the black lead is always connected to the black electrode and the red lead to the red electrode.***

- Plug the power leads to a power supply.

- Switch the power supply on and select the desired voltage. Small bubbles will rise from each electrode when the power supply is properly connected. ***Note: Voltage will depend on thickness, length and percentage of the gel and type of electrophoresis buffer used:***

a. High voltage: the electrophoresis time will be shorter but the heat will be higher and the resolution lower. High voltages are suitable for selecting and analyzing purity of samples.

b. Low voltage: the heat produced will be lower and resolution higher but the time of electrophoresis will be longer.

- Check electrophoresis by following the migration of the bromophenol blue dye. Migration must be always towards the positive pole. ***Note: Do not move the cell during electrophoresis. Small amounts of gases will be produced; make sure the equipment is located in a well aired area.***

- When electrophoresis finishes, switch the power supply off and unplug the power leads.

◆ After electrophoresis

- Remove the lid

- Take the tray with the cell out and carefully slide the gel out of the tray for staining with ethidium bromide and subsequent visualization with UV light. ***Note: agarose gels tear easily if not properly supported.***

- Properly discard the electrophoresis buffer. Do not reuse the buffer.

- Rinse the tank with deionized water.

- Remove any residual agarose from the tray by rising with deionized water.

- Prepare el volumen requerido de agarosa líquida en un frasco o matraz Erlenmeyer. P. ej.: para la preparación de un gel de 1 cm grosor al 1% de agarosa añada 0.7 g de agarosa en polvo a 70 mL de solución tampón de electroforesis.

- Pese el frasco.

- Caliente la mezcla hasta la ebullición en una placa calefactora o en un microondas para que la agarosa se disuelva totalmente en la solución tampón. Agite el frasco ocasionalmente para evitar la formación de grumos.

- Pese de nuevo el frasco y ajústelo al peso original añadiendo agua desionizada para compensar la pérdida por evaporación.

- Enfríe la agarosa líquida hasta 50-60 ºC aplicando un chorro de agua fría o introduciendo el frasco en un baño a esa temperatura. ***Nota: si la temperatura de la agarosa está por encima de los 60 ºC podría deformar el fondo de la bandeja para geles.***

- Vierta la agarosa a 60 ºC sobre la bandeja para geles situada dentro del molde. Ayúdese de una punta de pipeta para distribuir la agarosa uniformemente por toda la superficie de la bandeja y para eliminar las burbujas de aire formadas, especialmente aquellas situadas entre los dientes del peine.

- Espere unos 15-30 min hasta que la agarosa se enfríe y solidifique totalmente.

- Retire el peine cuidadosamente tirando de él verticalmente; extraiga del molde la bandeja con el gel y colóquela sobre la parte central del tanque de electroforesis. Coloque el gel de manera que los pocillos queden más cercanos al cátodo (polo negativo, negro) ya que las muestras migrarán siempre hacia el ánodo (polo positivo, rojo).

Nota: En caso de no utilizar el gel inmediatamente, humedezca la superficie del gel con solución tampón de electroforesis y selle la bandeja con el gel en una bolsa de plástico. Manténgalos a 4 ºC, de este modo el gel se puede conservar durante 1 ó 2 días si está bien sellado.

- Llene el tanque con solución tampón de electroforesis hasta cubrir la superficie del gel según el volumen indicado en la Tabla 2. ***Nota: la superficie del gel debe estar cubierta únicamente por 1 ó 2 mm de solución tampón.*** De este modo, se evita que el gel se seque y se asegura un gradiente de voltaje uniforme a lo largo del gel. Un volumen mayor de solución tampón no es necesario y resulta en un aumento de la corriente y el calor producido.

◆ Preparación de las muestras y carga del gel

La cantidad de muestra que puede ser cargada en cada pocillo es variable y depende de la concentración de las muestras y del tamaño del pocillo. La sobrecarga del gel produce la aparición de estelas y la distorsión de bandas.

- Seleccione la cantidad de muestra que desea cargar, teniendo en cuenta el tamaño de los pocillos del gel (Tabla 3) y la concentración de las muestras.

Tabla 3. Volumen máximo de muestra en función del tipo y grosor del peine y del grosor del gel.

Grosor gel (mm)	*Grosor peine (mm)*	*Anchura diente (mm)*	*Vol/pocillo (µL)*
10	1.5	4	54
		2.5	33
	1	4	32
		2.5	22.5
5	1.5	4	24
		2.5	15
	1	4	16
		2.5	10

Nota: los volúmenes indicados son aproximados. En geles de baja concentración de agarosa o de agarosa de bajo punto de fusión los volúmenes pueden ser menores que los indicados

- Añada solución de carga a las muestras antes de cargarlas en los pocillos. Con ayuda de una pipeta automática y puntas desechables, prepare las muestras combinando las cantidades apropiadas de solución de carga y muestra. Las mezclas pueden ser preparadas en tubos o bien sobre un trozo de Parafilm.

- Con ayuda de una pipeta automática llene uno a uno los pocillos con su correspondiente muestra evitando la formación de burbujas. ***Nota: extreme la precaución para no dañar el fondo o las paredes de los pocillos con la punta de la pipeta.***

◆ Electroforesis

- Coloque la tapa sobre el tanque de electroforesis. ***Nota: El diseño especial de la tapa únicamente permite colocarla en una posición asegurando siempre que el cable negro está conectado al electrodo negro y el cable rojo al electrodo rojo.***

- Conecte los cables con la fuente de alimentación.

- Encienda la fuente de alimentación y seleccione el voltaje deseado. Si la fuente está bien conectada, en cada electrodo se formarán pequeñas burbujas. ***Nota: La selección del voltaje dependerá del grosor, longitud y concentración del gel y del tipo de solución tampón utilizada:***

a. Voltaje alto: tiempo de electroforesis menor pero el calor producido será mayor y la resolución menor. El voltaje alto es adecuado para el análisis de pureza o la selección de muestras.

b. Voltaje bajo: el calor producido será menor y la resolución mayor pero el tiempo del experimento se alargará.

- Siga la evolución de la electroforesis mediante la migración del colorante azul de bromofenol. La migración debe realizarse en dirección al polo positivo. ***Nota: No mueva la cubeta durante la electroforesis. Pequeñas cantidades de gases se producen durante el proceso; asegúrese de que el equipo está situado en un lugar con adecuada ventilación.***

- Cuando la electroforesis se haya completado, apague la fuente de alimentación y desconecte los cables de la tapa.

- Weight the flask again and adjust to the original weight by adding deionized water to compensate for evaporation.

- Apply a water spurt or introduce the flask into a water bath to cool the liquid agarose to 50-60 ºC. ***Note: casting gels with the agarose above 60 ºC may cause the tray bottom to deform.***

- Pour the agarose at 60 ºC on the gel tray fitted into the mould. Use a pipette tip to distribute the agarose evenly over the whole surface of the tray and to remove air bubbles especially those situated between and around the teeth of the comb.

- Allow the agarose to cool until completely solidified, usually 15-30 min.

- Remove the comb gently by pulling it vertically; take the tray with the gel out of the mould and put them at the central part of the electrophoresis tank. Make sure that the wells of the gel are near the cathode (negative pole, black) since the samples always migrate towards the anode (positive pole, red).

Note: To store the gel, wet the gel surface with a small amount of electrophoresis buffer and seal the tray with the gel in a plastic bag. Keep at 4 ºC, at these conditions the gel can be stored for 1 or 2 days.

- Fill the tank with electrophoresis buffer until covering the surface of the gel with the volume indicated in Chart 2. ***Note: the surface of the gel must be covered only with 1 or 2 mm of buffer. This avoids the gel to dry and assures an even voltage gradient through the gel. A higher volume of buffer is not necessary and will result in an increase of the current and heat.***

◆ Sample preparation and loading the gel

The amount of sample to be load is variable and depends on sample concentration and well size. Overloading the gel causes trailing and distortion of bands.

- Select the amount of sample to be loaded, bearing in mind the size of the wells (Chart 3) and the concentration of samples.

CHART 3. Maximum volume of sample depending on the type and thickness of the comb and the thickness of the gel.

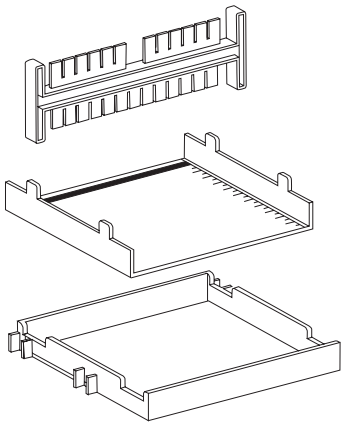
Gel thickness (mm)	*Comb thickness (mm)*	*Tooth width (mm)*	*Vol/well(µL)*
10	1.5	4	54
		2.5	33
	1	4	32
		2.5	22.5
5	1.5	4	24
		2.5	15
	1	4	16
		2.5	10

◆ Set up

- Put the gel tray inside the mould for gel casting. Make sure that the black band for visualizing the wells stays between the grooves to hold the comb.

- Select the comb with the appropriate thickness and number of wells for the experiment. Usually the 1.0 mm-thick comb is used but when fragile gels are cast it is advisable to use the 1.5 mm-thick comb.

- Put the comb on the mould so that each extreme of the comb fits into one of the lateral grooves of the mould



◆ Gel casting

- Select the agarose concentration of the gel according to the size of the DNA fragments to be analyzed (Chart 1).

CHART 1. Agarose concentration recommended for different sizes of DNA fragments.

Agarose concentration (w/v)	*Size of DNA fragments (Kb)*
0.5 %	1.0 to 30
0.7 %	0.8 to 12
1.0 %	0.5 to 10
1.2 %	0.4 to 3
1.5 %	0.2 to 3
2.0 %	0.01 to 1

- Select the volume of liquid agarose depending on the thickness of the gel to be cast (Chart 2).

CHART 2. Volume of agarose required according to gel thickness. It is also shown the volume of electrophoresis buffer needed to fill the tank in each case.

Gel thickness	*Agarose volume*	*Buffer volume (tank)*
10 mm	70 mL	250 mL
5 mm	35 mL	210 mL
3 mm	21 mL	200 mL

- In a bottle or Erlenmeyer flask prepare the volume of liquid agarose required. Eg: to prepare a 10 mm-thick and 1% agarose gel, add 0.7 g of agarose powder to 70 mL of electrophoresis buffer.

- Weight the flask.

- Heat the mixture in a hot plate or microwave until it boils and mix the flask occasionally until the agarose is completely dissolved in the buffer.

◆ Después de la electroforesis

- Retire la tapa

- Saque la bandeja con el gel y con cuidado deslice el gel fuera de la bandeja para su tinción con bromuro de etidio y posterior visualización con luz UV. Nota: los geles de agarosa se rompen fácilmente si no se manipulan con cuidado.

- Vacíe el tanque en el recipiente de desechos adecuado. No reutilice la solución tampón.

- Limpie el tanque con agua desionizada

- Elimine de la bandeja posibles restos de agarosa y aclárela con agua desionizada.

Seguridad

◆ La cubeta de electroforesis horizontal debe ser utilizada por personal cualificado previamente, que conozca el equipo y su manejo mediante el manual de uso.

◆ Coloque la cubeta de electroforesis sobre una mesa horizontal, plana y estable.

◆ No coloque la cubeta de electroforesis en zonas próximas a fuentes de calor (mecheros, sopletes...). Evite las vibraciones en el lugar de trabajo.

◆ La cubeta de electroforesis horizontal está preparada para ser conectada a una fuente de alimentación de CA. Una manipulación no adecuada puede resultar en quemaduras, heridas y daños a la instalación eléctrica.

◆ Nunca conecte la cubeta de electroforesis a la fuente de alimentación antes de comenzar el experimento. La corriente eléctrica proporcionada por la fuente de alimentación se transmite a la cubeta a través de los cables y la conexión de la tapa

◆ Nunca intente utilizar la cubeta de electroforesis sin la tapa puesta.

◆ Apegue siempre la fuente de alimentación antes de abrir la cubeta y retirar la tapa.

◆ Determinados reactivos indicados en este manual son peligrosos (p.ej.: bromuro de etidio, ácido acético, ácido bórico). El usuario deberá observar estrictamente las normas de seguridad indicadas para dichos productos.

◆ El usuario deberá así mismo seguir las normas de seguridad específicas para los equipos utilizados en el procedimiento indicado en este manual (transiluminador de luz UV, fuentes de alimentación, etc.)

5. SOLUCIONES TAMPÓN DE ELECTROFORESIS Y OTRAS

5.1 Soluciones tampón de electroforesis

Para electroforesis de geles de igual concentración y a un voltaje constante, la solución TAE proporciona una mejor resolución de fragmentos con una longitud > 4 Kb mientras que la solución TBE proporciona una resolución mejor para fragmentos de 0.1-3 Kb. La solución TBE presenta además una mayor capacidad amortiguadora y una menor conductividad por lo que es preferible su uso en electroforesis a voltajes altos (>150 V). Además, esta solución genera menos calor a voltajes equivalentes y no permite variaciones significativas del pH.

Debido a su baja capacidad de amortiguación, la solución TAE requiere sistemas de recirculación o mezcla ocasional para electroforesis completa sobre todo a voltajes eleva

dos. La solución TAE proporciona mejores resultados par el DNA superenrollado

Se aconseja preparar un stock de solución concentrada a partir de la cual se preparará en el momento el volumen de solución 1x requerido para la preparación del gel y posterior electroforesis.

Tabla 4. Solución TBE (Tris borato/EDTA), 10x

Componente	*Cantidad*	*Concentración*
Tris base	121.1 g	1 M
Ácido bórico anhidro	61.8 g	1 M
$Na_2EDTA{\cdot}2H_2O$	7.4 g	20 mM
Agua desionizada	Hasta 1 L	----

Nota: Esta es una solución concentrada 10x. Para su uso, diluir previamente con agua desionizada. El pH final debe ser 8.3 a 25 ºC.

Tabla 5. Solución TAE (Tris acetato/EDTA), 10x

Componente	*Cantidad*	*Concentración*
Tris base	48.4 g	400 mM
$Na_2EDTA{\cdot}2H_2O$	7.4 g	20 mM
Acetato sódico anhidro	16.4 g	200 mM
Ácido acético glacial	17.0 mL	296 mM
Agua desionizada	Hasta 1 L	----

Nota: Esta es una solución concentrada 10x. Para su uso, diluir previamente con agua desionizada. El pH final debe ser 7.8 a 25 ºC.

5.2 Solución de carga

La solución de carga debe ser añadida a las muestras antes de cargarlas en los pocillos. Esta solución debe tener la cantidad suficiente de glicerol para hacer que la muestra sea más densa que la solución de electroforesis y así caiga hacia el fondo del pocillo.

Se recomienda preparar un stock concentrado e inmediatamente antes de cargar las muestras añadirles solución de carga de modo que la concentración final en la muestra sea de 1x. El stock debe ser conservado a 4 ºC.

Tabla 6. Solución de carga, 10x

Componente	*Cantidad*	*Concentración*
Glicerol	5 mL	50% (v/v)
$Na_2EDTA{\cdot}2H_2O$	0.37 g	100 mM
Dodecil sulfato sódico (SDS)	0.1 g	1% (p/v)
Azul bromofenol	0.01 g	0.1% (p/v)
Agua desionizada	Hasta 10 mL	----

3. TECHNICAL SPECIFICATIONS

Code	*53000001*
Gel dimensions (mm)	100x70
Nº samples	8, 15
Comb thickness	1 and 1.5 mm
Buffer volume (approx.)	260 mL
Working conditions	0-40 ºC and < 80% RH
Continuous working time	>24 h
Max. Input voltage	100 V
Max. Current	50 mA
Cell dimensions (LxWxH)	268x116x76 mm

4. OPERATING MODE

4.1 Preliminary inspection

Unwrap the horizontal electrophoresis cell, take off all protections and make sure it does not present any damage because of the shipment. In case it presents any damage tell it immediately to your transport agent or dealer so that they can make the claims in the correct time limit.

Please keep the original wrapping; you will always need it for returns enclosed with all the accessories supplied.

Please check that all the accessories are enclosed with the equipment:

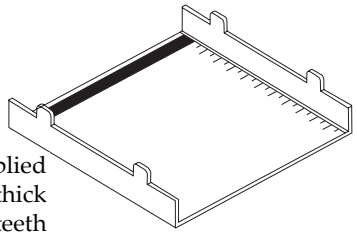
- 1 Tank with electrodes
- 1 Lid with fixed leads
- 1 Mould for gel casting
- 2 Gel trays (dimensions 74x100 mm)
- 2 combs of 1.0 and 1.5 mm thick respectively
- Warranty
- User's manual

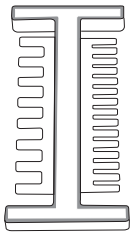
We will only accept any equipment return within 15 days after delivery and provided it comes in its original wrapping.

4.2 Operating mode

Note: the equipment is exclusively designed for laboratory purposes; ambient temperate must be 0-40 ºC and relative humidity must not exceed the 80%. Prior to use, put the electrophoresis cell on a plane, smooth and vibration-free surface

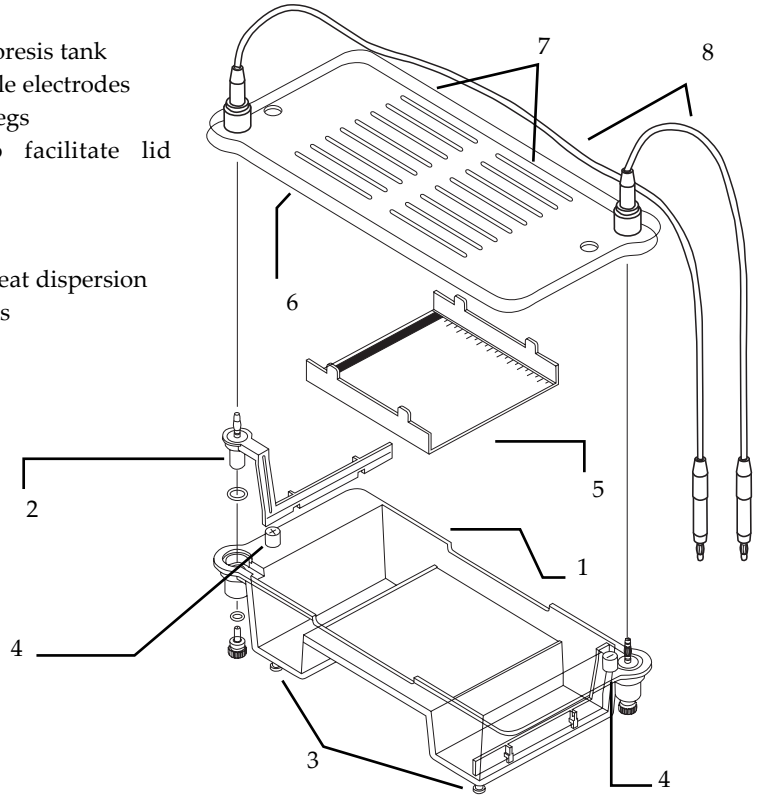
- *Gel tray:* with integrated rule and dark band to facilitate well visualization and thus make easier sample loading





- *Combs:* the equipment is supplied with 2 combs of 1.0 and 1.5 mm thick respectively, both of them with 8 teeth at one side and 15 teeth at the other.

1. Electrophoresis tank
2. Replaceable electrodes
3. Antiskid legs
4. Device to facilitate lid removal
5. Gel tray
6. Lid
7. Slots for heat dispersion
8. Fixed leads



5.3 Bromuro de etidio

Para visualizar el DNA bicatenario tras la electroforesis, es necesario teñir el gel con una solución de bromuro de etidio 0.5 g/mL en agua desionizada. Para ello, se introduce el gel en la solución y se mantiene durante un tiempo que dependerá del grosor del gel (10-15 min para geles de 3 mm y hasta 1 h para geles gruesos de 10 mm). Para reducir el fondo se recomienda aclarar el gel en agua desionizada durante 10-15 min (geles finos) o 30 min (geles gruesos).

El bromuro de etidio también puede ser añadido directamente a la agarosa líquida antes de la preparación del gel; de este modo la electroforesis se realiza en presencia de bromuro de etidio. La concentración de bromuro de etidio en el gel debe ser también de 0.5 g/mL.

Se recomienda preparar una solución concentrada de bromuro de etidio que debe ser almacenada en la oscuridad.

TABLA 7. Solución concentrada de bromuro de etidio, 20000x

Componente	*Cantidad*	*Concentración*
Bromuro etidio	100 mg	10 mg/mL
Agua desionizada	0.37 g	----

NOTA: el bromuro de etidio es un agente mutagénico muy potente. Lleve guantes en todo momento cuando manipule soluciones, geles o equipos que hayan estado en contacto con esta sustancia.

6. RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

PROBLEMA	*COMENTARIOS*
No aparecen burbujas en los electrodos cuando se conecta la fuente de alimentación	- Compruebe que la fuente de alimentación funciona correctamente - Compruebe que la tapa está correctamente colocada - Compruebe que los cables están en perfectas condiciones - Compruebe que los electrodos están en perfectas condiciones
Todas las bandas aparecen por duplicado (en una misma calle cada banda aparece dos veces)	- Concentre la muestra y utilice un gel fino con un peine fino - Evite movimientos durante la fotografía del gel - Reduzca el voltaje. La aparición de bandas dobletes puede ser debida a un proceso de desnaturalización causado por un exceso de calor durante la electroforesis

PROBLEMA	*COMENTARIOS*
Las muestras se salen por debajo del gel durante la carga de los pocillos	El fondo de los pocillos se ha roto al retirar el peine. Para minimizar la adhesión de la agarosa al peine, retire el peine tan pronto como la agarosa se ha enfriado y solidificado.
El gel se derrite o se reblandece cerca de los pocillos	Esto se debe a la variación del pH y a las elevadas temperaturas. Reduzca el voltaje de electroforesis
Se observa un efecto "smiling" pronunciado en uno de los lados del gel (bandas iguales en distintas calles migran más lentamente en uno de los lados del gel)	La preparación o electroforesis del gel se ha realizado en desnivel. Utilice un nivel de burbuja para asegurarse de que el molde y la cubeta están perfectamente nivelados.
Bandas con forma de S (frente de migración anómalo que resulta en calles que no migran a velocidad uniforme)	- Mezcle ocasionalmente la solución tampón durante la electroforesis - Utilice una solución tampón de baja conductividad y alta capacidad amortiguadora (p.ej. de TAE 1x o TBE 1x a TBE 0.5x) - Reduzca la concentración de sal de la muestra
Aparición de estelas (se observa un rastro de fluorescencia por detrás de las bandas)	- Reduzca la cantidad de muestra - Reduzca la cantidad de proteínas y/o glicerol de la muestra
Las bandas no son líneas rectas ni paralelas a los extremos del gel	- Antes y después de cargar las muestras, compruebe que los pocillos no contienen partículas o burbujas - Compruebe que la agarosa está completamente disuelta antes de añadirla sobre el molde para geles. - Retire cualquier partícula presente en la agarosa líquida - Compruebe que no hay burbujas atrapadas por el peine durante la preparación del gel
El azul bromofenol se vuelve amarillo (cambio de pH) durante la electroforesis. Los resultados no son interpretables	- Compruebe el pH de las soluciones de electroforesis. Asegúrese de que ha utilizado Tris base y no Tris HCl para su preparación. - Mezcle periódicamente la solución tampón durante la electroforesis

INDEX OF CONTENTS

1. USES OF THE INSTRUMENT 17
2. DESCRIPTION AND COMPONENTS 17
3. TECHNICAL SPECIFICATIONS 19
4. OPERATING MODE 19
5. ELECTROPHORESIS BUFFERS AND OTHER SOLUTIONS 23
6. TROUBLESHOOTING 25
7. MAINTENANCE AND CLEANING 26
ANNEX I: CE CERTIFICATE 28

1. USES OF THE INSTRUMENT

Nahita horizontal electrophoresis cell is specially designed for separating, identifying and preparing DNA and RNA molecules in agarose gels. The equipment is provided complete with all the necessary accessories for preparation and electrophoresis of 100x70 mm gels.

2. DESCRIPTION AND COMPONENTS

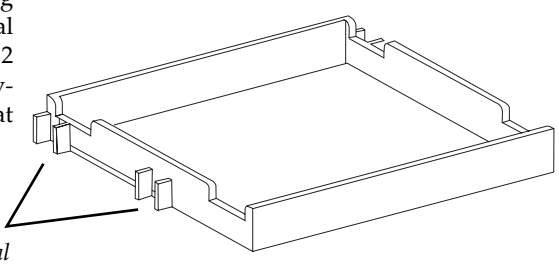
Components

Nahita electrophoresis cell is supplied together with all the necessary components for preparation and electrophoresis of agarose gels (100x70 mm):

◆ *Electrophoresis tank:* made of a high quality material resistant to breakage, chemicals and high pressure and temperatures. It is a durable, transparent and well-sealed device. It presents 4 antiskid legs and 2 replaceable electrodes made of pure platinum and resistant to corrosion and high temperatures.

◆ *Lid:* it is also made of a high quality and resistant material. It presents slots for heat dispersion and two fixed power leads with banana connector to be plugged to a power supply.

- *Mould for gel casting:* for casting 100x70 mm gels. It presents lateral grooves to fit and hold up to 2 combs in parallel in case of analyzing a large amount of samples at the same time.



Lateral grooves

Thank you for choosing this equipment. We sincerely wish that you enjoy your Nahita horizontal electrophoresis cell. We highly recommend looking after this equipment according to what is stated in this manual.

Nahita develops its products according to the CE marking regulations as well as emphasizing the ergonomics and security for its user.

The correct using of the equipment and its good quality will permit you to enjoy this equipment for years.

The improper use of the equipment can cause accidents and electric discharges, circuit breakers, fires, damages, etc. Please read the point of Maintenance, where we expose the security notes.

TO GET THE BEST RESULTS AND A HIGHER DURATION OF THE EQUIPMENT IT IS ADVISABLE TO READ THOROUGHLY THIS MANUAL BEFORE OPERATING WITH THE EQUIPMENT.

Please bear in mind the following:

◆ This manual is inseparable from the Nahita horizontal electrophoresis cell, so it should be available for all the users of this equipment.

◆ You should carefully handle the electrophoresis cell avoiding sudden movements, knocks, free fall of heavy / sharp objects on it.

◆ If you have any doubt about setting up, installation or functioning do not hesitate in contacting your wholesaler. You can also tell us any doubts or suggestions you have by contacting Nahita Technical Assistance Department by email to asistencia@auxilab.es or by telephone: +34 807 117 040 (0.30 Euros/min).

◆ This equipment is protected under the Warranties and consumer goods regulation (10/2003).

◆ Overhaul is not covered by the equipment warranty.

◆ Accessories (including their loss) are not covered by the product's warranty. The warranty neither covers piece's deterioration due to the course of time.

◆ Please make sure you keep the invoice, either for having the right to claim or asking for warranty coverage. In case you have to send the equipment to Nahita Technical Assistance Department you should enclose the original invoice or a copy as guarantee.

◆ Please do not forget filling the warranty certificate and send it before 15 days after the date of purchase.

◆ Manufacturer reserves the right to modify or improve the manual or equipment.

ATTENTION!! IF EQUIPMENTS ARE NOT PROPERLY CLEAN AND DISINFECTED THEY WOULD NOT BE ALLOWED TO REPAIR BY OUR TECHNICAL SERVICE.

INDEX OF LANGUAGES

Spanish 2-15
English 16-28

7. MANTENIMIENTO Y LIMPIEZA

Para un adecuado funcionamiento de la cubeta de electroforesis horizontal es necesario seguir algunas recomendaciones.

Nota: Todas las normas de utilización citadas anteriormente carecerán de valor si no se realiza una continua labor de mantenimiento.

◆ Siga las instrucciones y advertencias relativas a este manual.

◆ Tenga este manual siempre a mano para que cualquier persona pueda consultarlo.

◆ Utilice siempre componentes y repuestos originales. Puede ser que otros dispositivos sean parecidos, pero su empleo puede dañar el equipo.

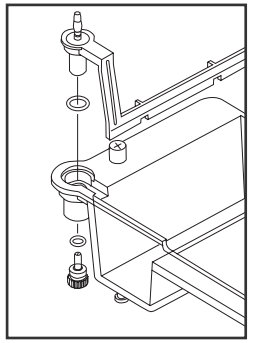
◆ NUNCA esterilice mediante autoclave o calor los distintos componentes de la cubeta.

◆ No exponga el aparato a productos como fenol, benceno, acetona, solventes hidrocarbonatos halogenados o alcoholes de laboratorio no diluidos.

◆ Evite la exposición prolongada del equipo o sus componentes a la luz UV.

◆ En caso de rotura o desgaste de los electrodos proceda de la siguiente manera para su recambio:

- Retire el tornillo y la arandela de goma situados en la parte inferior del conector tipo banana del tanque de electroforesis.
- Retire el electrodo roto o dañado tirando del conector tipo banana hacia arriba.
- Inserte el nuevo electrodo; no olvide la arandela de goma.
- Coloque de nuevo el tornillo y su correspondiente arandela de goma y ajústelo bien para que la junta quede bien sellada



<u>Limpieza</u>

◆ Limpie los distintos componentes del equipo suavemente con agua y detergentes no abrasivos y aclárelos con agua desionizada. ***Nota: ponga especial cuidado en no dañar el cable de los electrodos cuando limpie el tanque de electroforesis.***

◆ Seque los componentes con un trapo suave o déjelos secar al aire.

◆ Nunca utilice productos abrasivos, estropajos o productos que puedan rayar, ya que deterioran el equipo, limitando su vida útil.

¡ATENCIÓN! NO SE ADMITIRÁ NINGÚN APARATO PARA REPARAR QUE NO ESTÉ DEBIDAMENTE LIMPIO Y DESINFECTADO.

INSTRUCCIONES SOBRE PROTECCIÓN DEL MEDIO AMBIENTE

No se deshaga de este equipo tirándolo a la basura ordinaria cuando haya terminado su ciclo de vida; llévelo a un punto de recogida para el reciclaje de aparatos eléctricos y electrónicos. No contiene elementos peligrosos, tóxicos para el humano pero una eliminación no adecuada, perjudicaría al medio ambiente.

Los materiales son reciclables tal como se indica en la marcación. Al reciclar materiales u otras formas de reutilización de aparatos antiguos, esta Ud. Haciendo una contribución importante a la protección del medio ambiente.

Por favor póngase en contacto con la administración de su comunidad para que le asesoren sobre los puntos de recogida.

ANEXO I: CERTIFICADO CE

AUXILAB S.L.

DECLARACIÓN CE DE CONFORMIDAD
CUBETA DE ELECTROFORESIS HORIZONTAL NAHITA de Auxilab,S.L a la Directivade Máquinas (89/392/CEE modificada) y a las reglamentaciones adoptadas para su transposición

NOMBRE DEL FABRICANTE / IMPORTADOR:
AUXILAB, S.L.

DIRECCIÓN: **Polígono Morea Norte, 8**
31191 Beriáin (Navarra)

DECLARAMOS QUE:

CUBETA DE ELECTROFORESIS HORIZONTAL
53000001

Están diseñados y fabricados de acuerdo a:

- Directiva 89/392/CEE, incluidas las modificaciones de la misma, y las reglamentaciones nacionales que la transponen.
- Directiva 89/336/CEE modificada sobre compatibilidad electromagnética.
- Directiva 73/23/CEE modificada sobre seguridad eléctrica.

Y que se han aplicado las siguientes normas armonizadas (o parte de ellas):

UNE 292-1/-2/-2/A1,UNE-EN 1050, UNE-EN 614-1,UNE-EN 1037, UNE-EN 1088, UNE-EN 547, UNE-EN 953, UNE-EN 294, UNE-EN 418, UNE-EN 894-1, UNE-EN 894-2, UNE-EN 954-1, UNE-EN 60204-1, UNE 61010-1/A2, UNE-EN61010-2-051.

BERIAIN a 04 de JUNIO 2007

Fdo: ALFONSO AINCIBURU SANZ
DIRECTOR/GERENTE

Polígono Morea Norte, 8 31191 Beriain (Navarra) - Spain. Tel. 948 310 513 Fax 948 312 071
Internet: www.auxilab.es · Email: correo@auxilab.es